

Human Leukocyte Antigen 검사 신빙도조사 결과(2005-2006년)

김명희 · 최성은 · 오흥범

울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학과

Human Leukocyte Antigen Typing Proficiency Surveys in Korea, 2005-2006

Myeong-Hee Kim, M.D., Sung-Eun Choi, M.A., and Heung-Bum Oh, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center and University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Background : To monitor the performance of histocompatibility testing laboratories, HLA proficiency survey in Korea has been conducted biannually since 1996. In this report, we summarized the results of the surveys performed in recent two years (2005-2006).

Methods : A total of four proficiency surveys were performed, in which 59-61 laboratories participated. Each survey included three tests for HLA class I (serology and DNA) and class II (DNA) typing and six tests for HLA crossmatch.

Results : The overall concordance of serologic typing was 98.9% (355/359) for HLA-A, 97.5% (350/359) for HLA-B, and 94.7% (337/356) for HLA-C. The antigens assigned correctly by less than 95% of the participating laboratories were A26 (93.8%), B38 (94.2%), Cw3/Cw10 (90.9%), Cw6 (94.4%), and Cw8 (74.3%). The overall concordance rates of DNA typing were 99.6% (533/535) for HLA-A, 99.8% (539/540) for HLA-B, and 100% (392/392) for HLA-C. Correct assignment of HLA-DRB1 and -DQB1 was reported by 99.2% (98.1-100%) and 96.7% (88.9-100%) for the generic level and 100% and 95.8% (75-100%) for the allelic level, respectively. On the average 3.8% (0-7.7%) of the total laboratories showed unacceptable results in the crossmatch tests.

Conclusions : The rates of correct antigen identification and of unacceptable crossmatch were similar to those of previous surveys, which were considered satisfactory. The Korean proficiency survey program may have contributed to a high quality of HLA tests today and should be continued for further improvements of the tests tomorrow. (*Korean J Lab Med* 2007;27:442-50)

Key Words : Proficiency survey, HLA typing, HLA crossmatch

서론

장기 공여자 및 수혜자 간의 인간 주조직적합성항원(human major histocompatibility complex, human leukocyte antigen,

HLA)의 일치여부 결정의 실패와 신장 등 고형장기 이식의 장기생존율에 큰 영향을 미친다. 특히, 뇌사자 장기기증이나 조혈모세포이식을 통한 조혈모세포이식의 경우에는 서로 다른 기관에서 HLA 검사를 시행하고 이 결과에 따라 공여자와 환자를 선정하므로 기관 간 검사결과의 호환성이 중요하다. 따라서 HLA 관련 검사의 질 관리와 표준화가 더욱 필요하다. 이를 위해 선진국에서는 1970년대부터 HLA 검사의 표준화를 위한 외부정도관리 프로그램을 운영하고 있으며[1, 2], 보험지급이나 장기이식 관련 HLA 검사 실시 자격을 외부정도관리 성적에 따라 제한함으로써 이식을 위해 실시되는 조직적합성검사의 표준화를 의무화하고 있다.

국내에서는 1996년부터 HLA 외부정도관리 프로그램을 연 2회

접 수 : 2007년 9월 13일 접수번호 : KJLM2070
수정본접수 : 2007년 10월 29일
게재승인일 : 2007년 11월 3일
교신저자 : 오 흥 범
우 138-736 서울시 송파구 풍납2동 388-1
울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학과
전화 : 02-3010-4505, Fax : 02-478-0884
E-mail : hboh@amc.seoul.kr

*본 논문은 국립암센터 발전기금 지원으로 이루어졌음.

시행하고 있으며, HLA 검사실 설문조사와 워크숍을 병행함으로써 국내 HLA 검사실의 질 향상 및 표준화에 크게 기여하고 있다 [3-9]. 1996년 35개 기관이 신빙도 조사에 참가한 이래로 2006년에는 60개 기관이 참여하고 있다[6]. 본 연구는 2005년부터 2006년까지 4회(15차, 16차, 17차, 18차)에 걸쳐 시행된 국내 HLA 검사 신빙도 조사 결과를 분석하였다. HLA 항원검사(혈청학적 검사, DNA 검사), HLA 교차시험, panel reactive antibody (PRA) 검사 등 세가지 검사분야에서 신빙도 조사를 시행하였으나 PRA 검사는 방법별 참여기관수가 적어 평가에서 제외하였다.

재료 및 방법

1. 검사항목과 검체 배포

기존의 14차에 걸친 국내 HLA 검사 신빙도 조사에 이어 15차(2005년 4월), 16차(2005년 11월), 17차(2006년 4월), 18차(2006년 10월) 등 4회에 걸쳐 조사가 이루어졌다. HLA 항원검사 및 HLA 교차시험을 위한 검체는 박 등[6]이 제시한 방법에 따라 다음과 같이 제작 배포하였다. HLA 항원검사 검체는 HLA 고해상

Table 1. HLA proficiency surveys performed during 2005-2006 and response rates of the surveys

Trial No.	Trial date	No. of laboratories (participants/reply)	No. of laboratories (reply)			
			HLA class I serology	HLA class I DNA	HLA class II DNA	Crossmatch
15	2005. 4. 18	59/59	35-36	39-40	56	46-47
16	2005. 11. 7	59/59	33	43	55	46
17	2006. 4. 17	61/60	29	45	55	45
18	2006. 10. 23	60/60	22	51-52	56	47

Table 2. HLA DNA typing kits used by the laboratories participating in the HLA proficiency survey*

HLA tests	No. of laboratories	Methods	Kits (No. of laboratories)
HLA-A, B, C	52	SSOP reverse	Murex INNO LiPA HLA-A,B,C (19) Dynal RELI HLA A,B,C (13)
		SSP	Biotest HLA-A,B,C SSPtray Kit (3) Biotest HLA-AB/DR SSPtray Kit (2) Biotest HLA-A SSPtray Kit (1) Biosewom HLA-AB/DR PCR/SSP Kit (2) One lambda Micro Generic HLA Class I DNA Typing (ABC) (1) One lambda Micro Generic HLA Class I & Class II DNA Typing (AB/DR) (1) Biosewom HLA-A,B,C PCR/SSP Kit (2)
HLA-DR	56	SBT	In house (1) Other (7)
		SSOP reverse	Murex INNO LiPA HLA-DRB1 (21) Dynal RELI HLA-DRB1 (14) Biotest ELPHA HLA-DRB1 LowRes (1)
HLA-DQ	9	SSP	Biotest HLA-DRB SSP Kit (3) Biotest HLA-AB/DR SSPtray Kit (1) Biosewom HLA-AB/DR PCR/SSP Kit (3) One lambda Micro Generic HLA Class II DNA Typing (DR) (2) One lambda Micro Generic HLA Class I & Class II DNA Typing (AB/DR) (1)
		SBT	Biosewom HLA-DRB1 PCR/SSP Kit (2) In house (1) Other (7)
HLA-DQ	9	SSOP reverse	Murex INNO LiPA HLA-DQB (1) Dynal RELI HLA-DQB (1)
		SSP	Biotest HLA-DQB SSP Kit (1) One lambda Micro Generic HLA Class II DNA Typing (DQ) (1)
HLA-DQ	9	SBT	Biosewom HLA-DQB1 PCR/SSP Kit (1) In house (1) Other (2)
		RFLP	In house (1)

* Test methods reported in Trial No. 18 (2006. 10. 23).

Abbreviations: SSOP, sequence specific oligonucleotide probe; SSP, sequence specific primer; SBT, sequence-based typing; RFLP, restriction fragment length polymorphism.

도 검사를 시행하여 대립유전자 형별을 명확히 알고 있는 3명의 기증자로부터 400 mL를 채혈한 후 한 튜브당 전혈 3 mL씩을 분주하여 각 기관으로 배송하였다. HLA 교차시험 및 PRA 검체는 경산부 혹은 장기이식 후 체액성 거부반응이 있었던 환자의 혈액을 취하여 혈청을 분리한 후(0.1% sodium azide 포함) 각 기관에 1.5 mL씩 발송하였다. HLA 교차시험은 매회 6개를 시행하도록 하였다. 항혈청의 선정을 위하여 소량의 혈액을 채혈한 후 HLA 항체 특이성을 동정하고 이어 항원 검사용 세포와 교차시험 시행한 후 적절한 반응을 보이는지 여부를 판단하는 과정을 거쳤다. 검체는 국내 특급우편을 이용하여 실온에서 발송 후 24-48시간 내에 검사실에 도착될 수 있도록 하였다.

2. 결과보고

검체 발송 후 6주 내에 결과회신을 마감하였으며 결과회신 후 6주 내에 검사 결과를 평가하여 작성한 결과보고서를 해당검사실에 발송하였다. 결과보고서에는 정답(consensus)과 함께 모든 검사실의 검사결과를 무기명으로 나열하였고 각 기관에서는 기관 고유번호로 결과를 알 수 있도록 하였다.

결 과

1. 참여기관 및 회신율

4회의 신빙도 조사에 참여한 기관 수는 15차 59개, 16차 59개, 17차 61개, 18차 60개이었다. 검체 발송 후 대부분의 기관(90-100%)에서 발송 당일 오후, 또는 다음날 오전에 검체를 수령하였고 분리한 림프구의 생존도는 대부분의 기관에서 90%이상으로 검사에 적절한 것으로 나타났다. 검사결과는 17차에서 1개 기관이 누락된 것을 제외하고 4회에 걸쳐 모든 기관이 회신하였다(Table 1).

2. 검사시약

혈청학적 항원검사를 실시하는 검사기관에서는 16차와 18차에서 한 기관씩을 제외하고 모두 One Lambda와 Biotest의 HLA-A, B, C typing tray를 사용하고 있었다. DNA 검사의 경우에는 검사시약이 다양하였는데 이를 Table 2에 요약하였다. 대부분의 기관에서 상품화된 키트를 사용하여 DNA 검사를 시행하고 있었는데 18차 조사의 경우 INNO-LiPA 키트가 가장 많이 사용되어 HLA class I은 19개, HLA-DRB1은 21개, HLA-DQB1은 1개 기관에서 이용되고 있었다. 18차 조사에서는 HLA class I, -DRB1, -DQB1에 대해 자가 제조한 시약을 이용하여 sequence-based ty-

Table 3. Laboratory consensus in serological identification of HLA-A, -B, and -C in four trials of proficiency survey

Trial No.	Cell No.	HLA-A (%)		HLA-B (%)		HLA-C (%)	
		Consensus	False positive	Consensus	False positive	Consensus	False positive
15	C05-1	A2 (97.2)	A1 (2.8)	B13 (100)		Cw1 (100)	
		A30 (100)		B27 (100)		Cw6 (94.4)	Cw2 (2.8), Blank (2.8)
	C05-2	A26 (100)		B13 (100)		Cw1 (100)	
		Blank (100)		B61 (97.2)	Blank (2.8)	Cw3 (100)	
	C05-3	A2 (100)		B14/B64 (100)		Cw7 (100)	
		A30 (100)		B38 (94.2)	B63 (2.9), Blank (2.9)	Cw8 (74.3)	Blank (25.7)
	C05-4	A2 (100)		B35 (100)		Cw3/Cw10 (100)	
		A26 (100)		B54 (100)		Blank (100)	
16	C05-5	A2 (100)		B27 (100)		Cw1 (100)	
		A26 (100)		B54 (100)		Cw3/Cw10 (90.9)	Blank (9.1)
	C05-6	A11 (100)		B8 (100)		Cw7 (100)	
		A26 (93.8)	A10 (6.2)	B39 (100)		Blank (100)	
17	C06-1	A24 (100)		B51 (100)		Cw1 (100)	
		Blank (100)		B59 (100)		Blank (100)	
	C06-2	A2 (100)		B39 (100)		Cw4 (100)	
		A24 (100)		B62 (100)		Cw7 (100)	
	C06-3	A2 (100)		B60 (100)		Cw3 (100)	
		Blank (100)		B70/B71 (100)		Cw7 (100)	
18	C06-4	A2 (100)		B51 (100)		Cw4 (100)	
		A11 (100)		B62 (100)		Blank (100)	
	C06-5	A11 (100)		B35 (100)		Cw3 (100)	
		A24 (100)		B60 (100)		Blank (100)	
	C06-6	A2 (100)		B13 (100)		Cw4 (100)	
		A11 (100)		B60 (100)		Blank (95.2)	Cw6 (4.8)
Total % (N)		98.9% (355/359)		97.5% (350/359)		94.7% (337/356)	

Table 4. HLA-A, -B, -C antigens showing a low consensus (<95%) in serological identification and comparison of typing kits used

HLA antigen	Cell No.	Consensus % (No. of labs)			
		A kit	B kit	C kit	Total
A26	C05-6	92.0 (23/25)	100 (7/7)		93.9 (30/32)
B38	C05-3	92.6 (25/27)	100 (8/8)		94.2 (33/35)
Cw3/Cw10	C05-5	96.0 (24/25)	85.7 (6/7)	0.0 (0/1)	90.9 (30/33)
Cw6	C05-1	92.6 (25/27)	100 (9/9)		94.4 (34/36)
Cw8	C05-3	96.3 (26/27)	0.0 (0/8)		74.3 (26/35)

Table 5. Laboratory consensus in DNA typing of HLA-A, -B, and C in 4 trials of proficiency survey

Trial No.	Cell No.	HLA-A (% , N)	HLA-B (% , N)	HLA-C (% , N)
		Consensus	Consensus	Consensus
15	C05-1	A2 (100, 39/39), A30 (97.4, 38/39)*	B13 (100, 39/39), B27 (100, 39/39)	Cw1 (100, 29/29), Cw6 (100, 29/29)
	C05-2	A26 (100, 40/40), Blank (100, 40/40)	B13 (100, 39/39), B40/B61 (100, 39/39)	Cw1 (100, 29/29), Cw3/Cw10 (100, 29/29)
	C05-3	A2 (100, 39/39), A30 (100, 39/39)	B14/B64 (100, 41/41), B38 (100, 41/41)	Cw7 (100, 29/29), Cw8 (100, 29/29)
16	C05-4	A2 (97.7, 42/43) [†] , A26 (100, 43/43)	B35 (100, 43/43), B54 (100, 43/43)	Cw3 (100, 31/31), Cw14 (100, 31/31)
	C05-5	A2 (100, 42/42), A26 (100, 42/42)	B27 (100, 43/43), B54 (100, 43/43)	Cw1 (100, 31/31), Cw3 (100, 31/31)
	C05-6	A11 (100, 42/42), A26 (100, 42/42)	B8 (100, 43/43), B39 (100, 42/42)	Cw7 (100, 31/31), Cw7/Blank (100, 27/27)
17	C06-1	A24 (100, 45/45), Blank/A24 (100, 45/45)	B51 (100, 45/45), B59 (100, 45/45)	Cw1 (100, 32/32), Cw14/Blank (100, 32/32)
	C06-2	A2 (100, 45/45), A24 (100, 45/45)	B39 (100, 46/46), B15 (100, 46/46)	Cw4 (100, 32/32), Cw7 (100, 32/32)
	C06-3	A2 (100, 45/45), Blank/A2 (100, 45/45)	B40 (100, 46/46), B15 (100, 46/46)	Cw3 (100, 32/32), Cw7 (100, 32/32)
18	C06-4	A2 (100, 52/52), A11 (100, 52/52)	B51 (100, 52/52), B15 (98.1, 51/52) [‡]	Cw4 (100, 39/39), Cw14/Blank (100, 39/39)
	C06-5	A11 (100, 51/51), A24 (100, 51/51)	B35 (100, 51/51), B40 (100, 51/51)	Cw3 (100, 38/38), Cw3/Blank (100, 38/38)
	C06-6	A2 (100, 52/52), A11 (100, 52/52)	B13 (100, 52/52), B40 (100, 52/52)	Cw4 (100, 39/39), Cw14/Blank (100, 39/39)
Total% (No. of tests)		99.6% (533/535)	99.8% (539/540)	100% (392/392)

*A3 was reported in 1 lab.; [†]A blank was reported in 1 lab.; [‡]B78 was reported in 1 lab.

ping을 시행하는 곳이 1개 기관이 있었다.

3. HLA class I 혈청학적 검사결과

15차부터 18차 조사까지 총 12개의 검체에 대한 HLA-A, B, C 항원검사의 정답률은 Table 3과 같다. HLA-A의 경우 전체적인 정답률은 98.9%이었는데 15차 조사에서 1개 기관이 A2를 A1으로, 16차 조사에서 2개 기관이 A26을 A10으로 보고하였다. HLA-B의 경우 전체적인 정답률은 97.5%이었고 15차에서 B61을 B blank로, B38을 B blank와 B63으로 보고한 기관이 각각 1개 기관씩 있었다. HLA-C의 경우 전체적인 정답률은 94.7%였는데 오답을 보인 경우는 15차에서 Cw6를 Cw2와 blank로 보고한 예가 각각 2.8%, Cw8을 blank로 판정한 예가 25.7%였고, 16차에서 Cw3/Cw10을 blank로 판정한 예가 9.1%였으며, 18차에서 blank를 Cw6로 보고한 예가 4.8%였다. 95% 이하의 정답률을 보인 항원은 A26 (93.8%), B38 (94.2%), Cw3/Cw10 (90.9%), Cw6 (94.4%), 그리고 Cw8 (74.3%)였다(Table 4).

4. HLA class I DNA 검사결과

15차부터 18차 조사까지 총 12개의 검체에 대한 HLA class I

DNA 검사의 정답률은 Table 5와 같다. HLA-A의 경우 전체적인 정답률은 99.6% (533/535)이었는데 15차 조사에서 A30을 A3로, 16차 조사에서 A2를 A blank로 보고한 기관이 각각 1개 기관씩 있었다. HLA-B의 경우 전체적인 정답률은 99.8% (539/540)이었는데 18차에서 B15을 B78로 잘못 보고한 1개 기관이 있었다. HLA-C는 정답률이 100% (392/392)이었다.

5. HLA-DRB1, -DQB1 DNA 검사결과

15차부터 18차까지 총 12개 검체에 대한 HLA-DRB1, -DQB1 DNA 형별검사 결과는 Table 6, 7과 같다. HLA-DRB1 DNA 검사를 실시한 기관은 15차 56개, 16차 52개, 17차 55개, 18차 56개 기관이었다. 저해상도 수준에서의 정답률은 99.2% (98.1-100%)로 매우 높았으며, 고해상도 대립유전자 수준에서는 6-11개 기관에서 보고하였는데 정답률이 100%이었다. HLA-DQB1 DNA 검사를 실시한 기관은 15차 조사에서 12개였고 16차 11개, 17차와 18차 조사에서는 각각 9개 기관이 참가하였다. 저해상도 수준에서의 정답률은 96.7% (88.9-100%)였으며, 고해상도 대립유전자 수준에서는 4개 기관에서 보고하였는데 정답률이 95.8% (75-100%)이었다.

Table 6. Laboratory consensus in identification of HLA-DRB1 alleles in 4 trials of proficiency survey

Trial No.	Cell No.	HLA-DRB1 consensus (% , N)		
		Generic or serologic equivalent typing	Allele typing	
15	C05-1	DR1 (100, 56/56), DR7 (100, 56/56)	*0101 (100, 6/6)	*0701 (100, 6/6)
	C05-2	DR12 (100, 56/56), DR15 (100, 56/56)	*1202 (100, 6/6)	*1501 (100, 6/6)
	C05-3	DR4 (100, 56/56), DR15 (100, 56/56)	*0404 (100, 6/6)	*1502 (100, 6/6)
16	C05-4	DR9 (98.1, 51/52)*, DR14 (98.1, 51/52) [†]	*0901 (100, 7/7)	*1401 (100, 7/7)
	C05-5	DR1 (100, 52/52), DR4 (98.1, 51/52) [‡]	*0101 (100, 7/7)	*0405 (100, 7/7)
	C05-6	DR3 (100, 52/52), DR4 (100, 52/52)	*0301 (100, 8/8)	*0405 (100, 7/7)
17	C06-1	DR4 (100, 55/55), Blank/DR4 (100, 55/55)	*0404 (100, 9/9)	*0405 (100, 9/9)
	C06-2	DR4 (100, 55/55), DR8 (100, 55/55)	*0406 (100, 9/9)	*0803 (100, 9/9)
	C06-3	DR3 (100, 55/55), DR9 (100, 55/55)	*0301 (100, 9/9)	*0901 (100, 9/9)
18	C06-4	DR4 (98.2, 55/56) [§] , DR11 (100, 56/56)	*0406 (100, 12/12)	*1101 (100, 11/11)
	C06-5	DR9 (98.2, 55/56) , DR15 (100, 56/56)	*0901 (100, 11/11)	*1501 (100, 11/11)
	C06-6	DR7 (100, 56/56), DR12 (100, 56/56)	*0701 (100, 11/11)	*1202 (100, 11/11)
Total% (No. of tests)		99.2% (652/657)	100% (101/101)	

*DR14 was reported in 1 lab.; [†]DR6 was reported in 1 lab.; [‡]DR1 was reported in 1 lab.; [§]DR99 was reported in 1 lab.; ^{||}DR7 was reported in 1 lab.

Table 7. Laboratory consensus in identification of HLA-DQB1 antigens in 4 trials of proficiency survey

Trial No.	Cell No.	HLA-DQB1 consensus (% , N)		
		Generic or serologic equivalent typing	Allele typing	
15	C05-1	DQ2 (100, 12/12), DQ5 (100, 12/12)	*0202 (75.0, 3/4)*	*0501 (100, 4/4)
	C05-2	DQ3/DQ7 (100, 12/12), DQ6 (100, 12/12)	*0301 (100, 4/4)	*0602 (100, 4/4)
	C05-3	DQ4 (91.7, 11/12) [†] , DQ5 (100, 12/12)	*0402 (100, 4/4)	*0501 (100, 4/4)
16	C05-4	DQ3 (100, 11/11), DQ5 (100, 11/11)	*0303 (100, 4/4)	*0502 (100, 4/4)
	C05-5	DQ4 (100, 11/11), DQ5 (100, 11/11)	*0401 (100, 4/4)	*0501 (100, 4/4)
	C05-6	DQ2 (100, 11/11), DQ3 (100, 11/11)	*0201 (100, 3/3)	*0303 (100, 4/4)
17	C06-1	DQ4 (100, 9/9), DQ3 (100, 9/9)	*0401 (100, 4/4)	*0302 (100, 4/4)
	C06-2	DQ6 (88.9, 8/9) [‡] , DQ3 (100, 9/9)	*0601 (100, 4/4)	*0302 (100, 4/4)
	C06-3	DQ2 (100, 9/9), DQ3 (88.9, 8/9) [§]	*0201 (100, 4/4)	*0303 (100, 4/4)
18	C06-4	DQ3 (100, 9/9), DQ3 (100, 9/9)	*0301 (75.0, 3/4)	*0302 (100, 4/4)
	C06-5	DQ6 (100, 9/9), DQ3 (100, 8/9)	*0602 (100, 4/4)	*0303 (100, 4/4)
	C06-6	DQ2 (100, 9/9), DQ3 (100, 9/9)	*0202 (100, 4/4)	*0301 (100, 4/4)
Total% (No. of tests)		96.7% (119/123)	95.8% (46/48)	

*DQ*0201 was reported in 1 lab.; [†]DQ Blank was reported in 1 lab.; [‡]DQ99 was reported in 1 lab.; [§]DQ99 was reported in 1 lab.; ^{||}DQ*0303 was reported in 1 lab.; ^{||}DQ99 was reported in 1 lab.

6. HLA 교차시험 결과

총 24건의 교차시험 중 각 조사별 참여검사실의 검사방법(T-NIH/T-Warm, T-Long, T-AHG)에 따른 양성/음성 보고율을 Table 8에 정리하였다. 각각의 혈청/세포 교차시험에 대해 unacceptable로 평가된 기관은 0-7.7% (평균 3.8%)의 분포를 보였다. 10차 신빙도 조사에서부터 적용된 다음의 평가제외 기준에 해당하는 검사는 평가에서 제외하였다[7]. 네 가지 검사방법에서 90% 이상의 consensus를 보이지 않는 경우에 평가에서 제외하였고, T-NIH/T-Warm, T-Long 방법의 음성결과가 90% 이상의 consensus를 보이지만 T-AHG 또는 T-Flow 방법에서 양성이 10% 이상이면 T-NIH/T-Warm, T-Long 방법의 양성결과는 평가에서 제외하였다. 또한, T-NIH/T-Warm, T-Long 방법의 양성 결과가 80-90% 이상의 consensus를 보이면 T-AHG 또는 T-

Flow 방법에서 90% 이상의 양성 consensus를 보이면 T-NIH/T-Warm, T-Long 방법의 음성 결과는 평가 제외하였다. 교차시험 24건 중 9개 교차시험(C05-1 X S05-1, C05-1 X S05-2, C05-3 X S05-1, C05-6 X S05-3, C06-1 X S06-2, C06-4 X S06-3, C06-4 X S06-4, C06-5 X S06-4, C06-6 X S06-4)에서 T-NIH/T-Warm, T-Long, T-AHG가 90% 이상의 consensus를 보이지 않아 평가제외 되었고, T-AHG 검사에서는 90% 이상의 consensus를 보였지만 T-NIH/T-Warm 검사와 T-Long 검사에서는 90% 이상의 consensus를 보이지 않아 T-NIH/T-Warm 검사와 T-Long 검사에서 평가제외된 경우가 3건의 교차시험(C05-5 X S05-3, C05-5 X S05-4, C05-6 X S05-4)에서 있었다. T-NIH/T-Warm, T-Long 방법의 양성결과가 80-90%의 consensus를 보이면서 T-AHG 또는 T-Flow 방법에서 90% 이상의 양성 consensus를 보이면 T-NIH/T-Warm, T-Long의 양성 결과

Table 8. Laboratory consensus in HLA crossmatch results by cytotoxicity tests in 4 trials of proficiency survey

		Identification of incompatible crossmatch % (N)						Unaccep- table % (N of tests)
Trial No.	Cell X serum	T-NIH or T-Warm		T-Long		T-AHG		
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	
15	C05-1 X S05-1	29.5 (13/44)	70.5 (31/44)	35.3 (6/17)	64.7 (11/17)	77.1 (27/35)	22.9 (8/35)	NA
	C05-1 X S05-2	18.2 (8/44)	81.8 (36/44)	29.4 (5/17)	70.6 (12/17)	60 (21/35)	40 (14/35)	NA
	C05-2 X S05-1	4.5 (2/44)	95.5 (42/44)	5.9 (1/17)	94.1 (16/17)	5.7 (2/35)	94.3 (33/35)	5.2 (5/96)
	C05-2 X S05-2	84.1 (37/44)	15.9 (7/44)	88.2 (15/17)	11.8 (2/17)	94.3 (33/35)	5.7 (2/35)	5.7 (2/35)
	C05-3 X S05-1	44.2 (19/43)	55.8 (24/43)	62.5 (10/16)	37.5 (6/16)	85.7 (30/35)	14.3 (5/35)	NA
	C05-3 X S05-2	0 (0/43)	100 (43/43)	0 (0/16)	100 (16/16)	0 (0/35)	100 (35/35)	0 (0/94)
16	C05-4 X S05-3	82.1 (32/39)	17.9 (7/39)	85.7 (12/14)	14.3 (2/14)	97.2 (35/36)	2.8 (1/36)	2.8 (1/36)
	C05-4 X S05-4	85 (34/40)	15 (6/40)	100 (14/14)	0 (0/14)	100 (36/36)	0 (0/36)	0 (0/50)
	C05-5 X S05-3	61 (25/41)	39 (16/41)	80 (12/15)	20 (3/15)	97.2 (35/36)	2.8 (1/36)	2.8 (1/36)
	C05-5 X S05-4	58.5 (24/41)	41.5 (17/41)	80 (12/15)	20 (3/15)	97.2 (35/36)	2.8 (1/36)	2.8 (1/36)
	C05-6 X S05-3	11.9 (5/42)	88.1 (37/42)	13.3 (2/15)	86.7 (13/15)	25 (9/36)	75 (27/36)	NA
	C05-6 X S05-4	50 (21/42)	50 (21/42)	66.7 (10/15)	33.3 (5/15)	97.2 (35/36)	2.8 (1/36)	2.8 (1/36)
17	C06-1 X S06-1	82.5 (33/40)	17.5 (7/40)	93.3 (14/15)	6.7 (1/15)	91.9 (34/37)	8.1 (3/37)	7.7 (4/52)
	C06-1 X S06-2	80 (32/40)	20 (8/40)	20 (3/15)	80 (12/15)	29.7 (11/37)	70.3 (26/37)	NA
	C06-2 X S06-1	82.5 (33/40)	17.5 (7/40)	80 (12/15)	20 (3/15)	94.6 (35/37)	5.4 (2/37)	5.4 (2/37)
	C06-2 X S06-2	87.5 (35/40)	12.5 (5/40)	86.7 (13/15)	13.3 (2/15)	100 (37/37)	0 (0/37)	0 (0/37)
	C06-3 X S06-1	0 (0/40)	100 (40/40)	0 (0/15)	100 (15/15)	5.4 (2/37)	94.6 (35/37)	2.2 (2/92)
	C06-3 X S06-2	92.5 (37/40)	7.5 (3/40)	93.3 (14/15)	6.7 (1/15)	100 (37/37)	0 (0/37)	4.3 (4/92)
18	C06-4 X S06-3	50 (22/44)	50 (22/44)	46.7 (7/15)	53.3 (8/15)	80 (32/40)	20 (8/40)	NA
	C06-4 X S06-4	40.9 (18/44)	59.1 (26/44)	33.3 (5/15)	66.7 (10/15)	62.5 (25/40)	37.5 (15/40)	NA
	C06-5 X S06-3	97.7 (43/44)	2.3 (1/44)	93.3 (14/15)	6.7 (1/15)	100 (40/40)	0 (0/40)	2 (2/99)
	C06-5 X S06-4	34.1 (15/44)	65.9 (29/44)	26.7 (4/15)	73.3 (11/15)	52.5 (21/40)	47.5 (19/40)	NA
	C06-6 X S06-3	88.6 (39/44)	11.4 (5/44)	93.3 (14/15)	6.7 (1/15)	100 (40/40)	0 (0/40)	1.8 (1/55)
	C06-6 X S06-4	40.9 (18/44)	59.1 (26/44)	40 (6/15)	60 (9/15)	72.5 (29/40)	27.5 (11/40)	NA

Abbreviation: NA, not applicable.

는 good으로 평가하였고 음성 결과는 평가에서 제외하였는데 이런 경우가 7개 교차시험(C05-2 X S05-2, C05-4 X S05-3, C05-4 X S05-4, C06-1 X S06-1, C06-2 X S06-1, C06-2 X S06-2, C06-6 X S06-3)에서 보였다. 이들 평가에서 제외된 항목 중 C05-6 X S05-3과 C06-1 X S06-2를 제외한 나머지 검사결과에서 T-/T-Warm과 T-Long 검사의 평균 86.3% (53.3-100%)에서 1:4 이하의 낮은 역가를 보였다.

고 찰

본 연구에 포함된 총 4회의 신빙도 조사에 59-61개 검사기관이 참가하였다. HLA class I 혈청학적 항원검사에 대한 전체적인 정답률은 HLA-A 항원 98.9%, HLA-B 항원 97.5%, HLA-C 항원 94.7%로 지난 2003-2004의 2년간의 신빙도 조사와 비슷한 결과를 보였다[8]. 16차 조사에서 HLA-A 항원 검사에서 A26을 A10으로 보고한 기관이 1개 기관 있었다. HLA-B 항원검사는 15차 조사에서 3개 기관이 오답을 보고하였는데, HLA-B61을 B blank로, HLA-B38을 B63과 B blank로 각각 보고하였다. HLA-C의 경우에는 HLA-A와 HLA-B에 비하여 낮은 정답률을 보였다. HLA-Cw의 경우는 세포 표면의 표현 정도가 HLA-A, B에

비해 10% 이하로 매우 낮고 적절한 항혈청을 구하기 어렵기 때문에 형별 판정이 어려운 것으로 알려져 있다[10, 11]. 1982-1992년 사이의 CAP survey 결과를 보면 HLA-C 형별 판정이 대부분 90% 이하로 낮은 정답률을 보이는 것을 알 수 있다[12]. 반면, 국내 신빙도 조사에서는 HLA-C 형별 판정의 정답률이 90% 이상을 보이고 있으므로 매우 양호한 성적이라고 할 수 있다.

총 4회의 신빙도 조사에서 총 12개의 세포에서 A항원 5종, B항원 14종, C항원 6종이 평가되었는데 HLA-A 항원 3종(A11, A24, A30), HLA-B항원 12종(B8, B13, B14/B64, B27, B35, B39, B51, B54, B59, B60, B62 B70/71), HLA-C 항원 3종(Cw1, Cw4, Cw7)에 대해서 100%의 정답률을 보였다(Table 9). Cw8은 74.4%의 매우 낮은 정답률을 보였는데, 오답을 낸 기관들에서는 blank로 보고하였다. 반면, 동일 검체에 대한 DNA 검사에서는 100% (29/29)의 정답률을 보였다. Cw8의 경우는 이전의 신빙도 조사 결과에서도 상품 tray에 따라 검사결과에 상당한 차이를 보인다는 보고가 있었는데[6], 이번 조사에서도 상품 tray의 항혈청의 반응도가 약했던 것이 주요 원인으로 생각된다. Cw6의 경우는 지난 2004년의 신빙도 조사에서 77.1%로 매우 낮은 정답률을 보였었는데, 2005년에는 94.4%로 정답률이 향상된 것을 확인할 수 있었다. 2004년도에 Cw6에서 오답을 보낸 모든 검사실에서 같은 회사의 제품을 사용하였었는데, 15차 신빙도 조사에서 오답을 보낸 검사실은

Table 9. Laboratory consensus in identification of various HLA-A, -B and -C antigens on 12 whole blood specimens

HLA antigen	No. of tests	Consensus %		HLA antigen	No. of tests	Consensus %	
		Mean	Range			Mean	Range
A2	8	99.7	97.2-100	B8	1	100	100
A11	4	100	100	B13	3	100	100
A24	3	100	100	B14/B64	1	100	100
A26	4	98.5	93.8-100	B27	2	100	100
A30	2	100	100	B35	2	100	100
				B38	1	94.2	94.2
				B39	2	100	100
				B51	2	100	100
Cw1	4	100	100	B54	2	100	100
Cw3	5	98.2	90.9-100	B59	1	100	100
Cw4	3	100	100	B60	3	100	100
Cw6	1	94.4	94.4	B61	1	97.2	97.2
Cw7	4	100	100	B62	2	100	100
Cw8	1	74.3	74.3	B70/B71	1	100	100
				Bw4	7	97.7	93.5-100
				Bw6	10	98.6	93.5-100

2004년도와 동일 검사실은 아니었으나 사용하는 tray는 동일 회사의 제품이었다. 따라서 항혈청 반응도가 개선되었거나 혹은 외부 정도관리를 통해 검사의 신빙도가 향상된 것이 아닌가 사료되었다.

HLA DNA 검사는 class I의 경우 참여기관이 2004년 41개에서 2006년 현재 52개로 늘어나 많은 기관에서 DNA 검사법을 시행하고 있음을 알 수 있었고, 본 연구에 포함된 4회의 신빙도 조사에서 99.6-100%의 정답률로 매우 우수한 성적을 보였다. 16차 조사부터는 DNA 분석의 경우 generic type과 serologic equivalent를 구분하여 입력하도록 하여 별도로 평가를 시행하였는데, 각 기관별로 한 개의 대립유전자형이 나오는 경우 같은 대립유전자를 두번 표기하는 경우와 한 대립유전자를 적고 두번째 대립유전자는 blank로 표시하는 경우가 있었다. 예를 들면 A2 한 개의 대립유전자가 나온 경우, A2, A2로 표기한 기관이 52기관 중 22기관(42.3%)이었고, 나머지 30기관(57.7%)에서는 A2, Blank로 표기하였다. 따라서, 이에 대하여 표기 방식을 통일해야 할 필요성이 있는데, CAP survey에서와 같이 한가지 대립유전자만 동정되는 경우 두번째 대립유전자는 blank로 표기하는 것이 바람직하다고 생각된다.

HLA-DRB1 검사는 신빙도 조사 기간 2년 동안 55-57개의 기관에서 실시하고 있었으며 이 중 6-11기관에서 고해상도 검사를 실시하고 있었다. 고해상도 검사의 경우 15차 신빙도 조사 당시 6개 기관에서 시행하고 있었는데, 16차에서는 7개, 17차에서는 9개, 18차에서는 11개 기관으로 증가하는 추세를 보였다. 저해상도 또는 혈청학적 수준에서 정답률은 99.2%였고, 고해상도 검사를 시행한 기관에서는 모두 정확한 답을 제시하였다. HLA-DQB1의 경우에는 저해상도 및 고해상도 수준에서 각각 96.7%, 95.8%로 2004년에 보고된 99.2%, 98.1%보다 낮은 정답률을 보였다. 고해상도 검사에서는 15차와 18차에서 각각 한 기관에서 오답을 제시하였는데, HLA-DQB1*0202를 HLA-DQB1*0201로, HLA-DQB1*

0301을 HLA-DQB1*0303으로 각각 보고하였다. 이들 두 기관 중 한 기관에서는 자가제조시약을 사용하였고 한 기관은 구체적인 정보를 제공하지 않아 시약을 확인할 수 없었다. 이들 기관에서는 널리 사용되지 않는 시약을 이용하여 검사하므로 사용하는 시약에 대한 평가가 이루어져야 할 것이다.

HLA 교차시험은 장기 이식시 초급성 거부반응을 예방하기 위한 검사로 신빙도 조사에 있어서 가장 중요한 부분이라고 할 수 있다. HLA 교차시험은 항온시간, 세포세척 회수, 보체의 종류, 항글로불린 제제의 사용 여부 등에 따라 검사결과가 달라질 수 있기 때문에 검사실 간의 표준화가 힘들고 신빙도 조사에서 양성기준을 정하기가 어렵다. 국내 신빙도 조사에서는 박 등[6]에 의해 5차 조사부터 T-NIH/T-Warm, Amos washing, T-long, T-AHG 4가지 군으로 나누어 평가하기 시작하였는데 본 연구에 포함된 2년간의 조사에서는 T-NIH/T-Warm, T-long, T-AHG의 직접 세포 독성법과 유세포 분석법으로 나누어 평가하였다.

본 연구에 포함된 4회의 신빙도 조사에서 T-NIH/T-Warm, T-Long, T-AHG 3가지 단계 결과의 43% (62/144)가 앞서 기술한 기준에 따라 평가에서 제외되었다. T-NIH/T-Warm, T-Long, T-AHG 모두에서 90% 이상의 consensus를 보이지 않아 평가에서 제외된 9개 교차시험 중 7건(C05-1 X S05-1, C05-1 X S05-2, C05-3 X S05-1, C06-4 X S06-3, C06-4 X S06-4, C06-5 X S06-4, C06-6 X S06-4)은 양성으로 판정해야 하나 T-NIH/T-Warm, T-Long 검사 대부분에서 50% 이상의 기관이 음성으로 보고하였고, 양성으로 답한 기관에서도 대부분 1:1-1:4의 낮은 역가를 보였다. 그러나 T-AHG 검사에서는 음성으로 답한 기관이 T-NIH/T-Warm, T-Long 검사에서 음성으로 답한 기관의 절반 이하로 감소하고 양성결과의 역가도 높아짐을 볼 수 있었다. 또한 3개의 교차시험에서 T-AHG 검사는 90% 이상의 consensus를 보였지만 T-NIH/T-Warm와 T-Long 검사는 90% 이상의 con-

sensus를 보이지 않았고, 7개 교차시험에서는 T-NIH/T-Warm, T-Long 검사가 80-90%의 양성 consensus를 보이면서 T-AHG와 T-Flow 검사는 90% 이상의 양성 consensus를 보였다. 이들 결과들을 볼 때 낮은 역가의 양성 검체에서는 덜 예민한 방법으로 검사할 경우 위음성을 보이는 경우가 많으므로 평가에서 제외되는 경우가 많았다. 또한 교차시험에서 위음성을 보일 경우에는 이식 시 급성 거부반응을 일으킬 수 있으므로[13-16] 모든 검사실에서는 반드시 예민한 방법을 동시에 시행해야 함을 보여주었다. 세 가지 phase 모두에서 90% consensus를 이루지 못한 교차시험 중 C05-6 X S05-3과 C06-1 X S06-2의 경우는 음성 결과를 보일 것으로 예상하였으나 90% consensus에 미치지 못하였는데 특히 C05-6 X S05-3의 경우는 75-88%의 기관에서 음성으로 답을 보내왔고 양성으로 보고한 기관도 2-9기관으로 소수였으며 대부분 낮은 양성 역가를 보였다.

교차시험의 결과는 장기 이식시 장기배분 및 이식 거부반응과 관련이 높기 때문에 검사 방법의 표준화가 이루어져야 하며[17], 따라서 유사 방법을 사용하는 타기관과의 결과는 반드시 면밀히 검토하여 검사실의 질향상을 위한 기초자료로 활용하여야 한다. 그런데 국내에서는 HLA 교차시험 참여기관이 45기관 가량이므로 5기관 이상에서 다른 결과를 보고할 경우 “평가제외”로 판정되고 있어 해당 검사결과는 자칫 무시될 수 있는 문제점을 안고 있다. “평가제외”의 경우는 많은 경우 항체 역가가 낮은 경우이므로 신빙도 조사 결과의 전체적인 경향을 자세히 분석하는 것이 필요하다. 예를 들어 70-80% 기관이 양성을 보고하는 혈청들에서 해당 기관이 항상 음성을 보고했다면 검사가 덜 예민하다고 판단할 수 있을 것이다. 그런데 어떠한 경우에 검사의 질 관리를 적극적으로 개선할 필요가 있는지에 대한 가이드라인은 없는 실정이다. 따라서 평가기준을 개정하여 신빙도 조사가 검사실 질관리에 적극적으로 활용될 수 있도록 하는 방안도 고려해 볼 필요가 있을 것이다. 예를 들어 80% 이상의 consensus가 있는 경우에는 “good”으로 처리하고 나머지 기관에 대해서는 “분석자료 참조”라는 별도의 평가 기준을 추가하는 방안 등이다. 이를 위해서는 전체 참여기관을 대상으로 설문조사 등의 방법을 통한 의견수렴 과정이 필요할 것이다.

결론적으로 지난 2년간 국내 HLA 검사 신빙도 조사결과를 종합해 볼 때 대부분의 기관이 매우 높은 신빙도 수준을 유지하고 있으며, 더 높은 수준의 신빙도를 유지하기 위해서는 지속적인 연구를 통한 신빙도 조사 프로그램의 개선과 운영이 필요하다고 생각된다.

요 약

배경 : 국내에서는 1996년 처음 HLA 검사 신빙도 조사가 시작되어 현재까지 년 2회 실시되고 있다. 본 연구에서는 최근 2년간의 국내 HLA 검사 신빙도 조사 결과를 종합 보고하고자 한다.

방법 : 국내 59-61개 HLA 검사실을 대상으로 4회에 걸쳐 신빙도 조사를 실시하였다. 각 신빙도조사시 검사항목은 HLA class

I 혈청학적 검사 및 DNA 검사 3건, class II DNA 검사 3건, HLA 교차시험 검사 6건이었다.

결과 : 혈청학적 검사의 정답률은 HLA-A 98.9% (355/359), HLA-B 97.5% (350/359), HLA-C 94.7% (337/356)이었다. 95% 이하의 정답률을 보인 항원은 A26 (93.9%), B38 (94.2%), Cw3/Cw10 (90.9%), Cw6 (94.4%), 그리고 Cw8 (74.3%)이었다. DNA 검사의 정답률은 HLA-A 99.6% (533/535), HLA-B 99.8% (239/540), HLA-C 100% (392/392)였다. HLA-DRB1 DNA검사의 저해상도 수준 정답률은 99.2% (98.1-100%)이었고, 고해상도 대립유전자 정답률은 100%였다. HLA-DQB1 DNA 검사는 저해상도 96.7% (88.9-100%), 고해상도 95.8% (75-100%)의 정답률을 보였다. 교차시험에서 unacceptable로 평가된 기관은 0-7.7% (평균 3.8%)의 분포를 보였다.

결론 : 항원검사의 정답률과 교차시험의 unacceptable 비율은 지난 신빙도 조사와 유사한 수준으로 만족할 만한 신빙도를 보여주었다. 신빙도 조사 프로그램이 국내 HLA 검사 신빙도 향상에 일부 기여하였으며 높은 수준의 신빙도를 유지하기 위해 신빙도 조사 프로그램의 지속적인 운영과 개선이 필요하다.

참고문헌

1. Appendix one; proficiency testing programs. In: ASHI laboratory manual. 2nd ed. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics 1990:693-8.
2. Shroyer TW. Proficiency testing. In: Nikaen A, ed. ASHI laboratory manual. 3rd ed. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics 1996:VI.8.1-VI.8.3.
3. Park MH. A questionnaire survey of HLA laboratories in Korea (1993). J Korean Soc Transplant 1993;7:245-8. (박명희. 전국 HLA 검사실 현황 설문조사(1993). 대한이식학회지 1993;7:245-8.)
4. Park MH and Yang YS. A questionnaire survey of HLA laboratories in Korea (1995). Korean J Clin Pathol 1996;16:987-1000. (박명희 및 양윤선. 전국 HLA 검사실 현황 설문조사(1995). 대한임상병리학회지 1996;16:987-1000.)
5. Park MH and Whang DH. A questionnaire survey of HLA laboratories in Korea (1997). Korean J Clin Pathol 1998;18:650-9. (박명희 및 황동희. 전국 HLA 검사실현황설문조사(1997). 대한임상병리학회지 1998;18:650-9.)
6. Park MH, Whang DH, Kim BC. A two-year study on the HLA typing proficiency survey in Korea, 1996-1998. Korean J Clin Pathol 1999; 19:714-22. (박명희, 황동희, 김병철. HLA 검사 신빙도조사 결과(1996-1998년). 대한임상병리학회지 1999;19:714-22.)
7. Park MH, Kim BC, Han BY. Results of the HLA typing proficiency survey in Korea, 2000-2002. Korean J Lab Med 2005;25:329-39. (박명희, 김병철, 한복연. HLA 검사 신빙도조사 결과(2000-2002년). 대한진

- 단검사의학회지 2005;25:329-39.)
8. Lim JH, Hwang SH, Oh HB. HLA typing proficiency survey in Korea, 2003-2004. *Korean J Lab Med* 2005;25:434-41. (임지훈, 황상현, 오흥범. HLA 검사 신빙도조사 결과(2003-2004년). 대한진단검사의학회지 2005;25:434-41.)
 9. Lim JH, Hwang SH, Oh HB. A questionnaire survey of HLA laboratories in Korea (2005). *Korean J Lab Med* 2005;25:425-33. (임지훈, 황상현, 오흥범. 전국 HLA 검사실 현황 설문조사(2005). 대한진단검사의학회지 2005;25:425-33.)
 10. Neisig A, Melief CJ, Neeffes J. Reduced cell surface expression of HLA-C molecules correlates with restricted peptide binding and stable TAP interaction. *J Immunol* 1998;160:171-9.
 11. Neeffes JJ and Ploegh HL. Allele and locus-specific differences in cell surface expression and the association of HLA class I heavy chain with beta 2-microglobulin: differential effects of inhibition of glycosylation on class I subunit association. *Eur J Immunol* 1988;18:801-10.
 12. Marrari M and Duquesnoy RJ. Progress report on the ASHI/CAP Proficiency Survey Program in Histocompatibility Testing. I. HLA-A, B, C typing, antibody screening, and lymphocytotoxicity crossmatching. *American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. College of American Pathologists. Hum Immunol* 1994;39:87-95.
 13. Van Kampen CA, Roelen DL, Versteeg-van der Voort Maarschalk MF, Hoitsma AJ, Allebes WA, Claas FH. Activated HLA class-I reactive cytotoxic T lymphocytes associated with a positive historical crossmatch predict early graft failure. *Transplantation* 2002;74:1114-9.
 14. Halloran PF, Wadgymar A, Ritchie S, Falk J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation* 1990;49:85-91.
 15. Sumitran-Holgersson S. HLA-specific alloantibodies and renal graft outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:897-904.
 16. Conca R, Praticò-Barbato L, Dall'Omo AM, Amoroso A. The Italian quality control scheme for crossmatching procedures and HLA sera screening: the 2002 pilot study. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:1470-5.
 17. Duquesnoy RJ and Marrari M. Multilaboratory evaluation of serum analysis for HLA antibody and crossmatch reactivity by lymphocytotoxicity methods. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:149-56.